






BIOMATERIALS FOR BONE REPLACEMENTS**Publication number:** JP7505643 (T)**Publication date:** 1995-06-22**Inventor(s):****Applicant(s):****Classification:**

- international: **A61L27/00; A61K6/06; A61K6/097; A61L24/08; A61L27/44; A61L27/46; A61K6/02; A61L24/00; A61L27/00; (IPC1-7): A61K6/06; A61K6/097; A61L27/00**

- European: A61L24/08; A61L27/44R; A61L27/46

Application number: JP19930517994T 19930416**Priority number(s):** WO1993EP00933 19930416; IT1992PD00072 19920417**Also published as:** JP3731890 (B2) WO9320858 (A1) PT637254 (E) IT1259090 (B) ES2185629 (T3)

more >>

Abstract not available for JP 7505643 (T)

Abstract of corresponding document: **WO 9320858 (A1)**

Bonding solutions for granular bone replacements are provided, comprising hyaluronic acid or hyaluronic acid derivatives such as hyaluronic acid esters and hyaluronic acid antibiotic salts in combination with natural or artificial bone granules. These solutions can be used in human and veterinary dentistry and bone surgery as granular bone replacements to promote the growth and repair of damaged or defective bone tissue.

Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表平7-505643

第3部門第2区分

(43)公表日 平成7年(1995)6月22日

(51)Int.Cl.*	識別記号	庁内整理番号	F I
A 6 1 K 6/06	A	9051-4C	
6/097		9051-4C	
A 6 1 L 27/00	J	7019-4C	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 12 頁)

(21)出願番号	特願平5-517994
(86) (22)出願日	平成5年(1993)4月16日
(85)翻訳文提出日	平成6年(1994)10月17日
(86)国際出願番号	P C T / E P 9 3 / 0 0 9 3 3
(87)国際公開番号	W O 9 3 / 2 0 8 5 8
(87)国際公開日	平成5年(1993)10月28日
(31)優先権主張番号	P D 9 2 A 0 0 0 0 7 2
(32)優先日	1992年4月17日
(33)優先権主張国	イタリア (I T)

(71)出願人	フィディーア・ソシエタ・ベル・アチオニ イタリア国35031アバーノ・テルメ、ピ ア・ボンテ・デッラ・ファブリーカ3/A 番
(72)発明者	ドリガッティ、フランコ イタリア国38015トレント、ラビス、ピ ア・セガンティーニ23番
(72)発明者	カッレガーロ、ランフランコ イタリア国35020パドバ、ボンテ・ディ・ ブレンタ、ピア・ブラービ35番
(74)代理人	弁理士 青山 葆 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 骨置換剤のためのバイオ物質

(57)【要約】

ヒアルロン酸又はヒアルロン酸エステル、ヒアルロン酸抗生物質塩の様なヒアルロン酸誘導体を、天然又は人工骨顆粒と共に含む顆粒骨置換剤のための結合溶液を提供する。これらの溶液は、ヒト及び動物の歯科及び骨の外科において、顆粒骨置換剤として使用して、損傷した又は欠陥のある骨組織の成長及び修復を促進することができる。

請求の範囲

1. ヒアルロン酸およびヒアルロン酸誘導体から構成される群から選択されるもの少なくとも1個からなる顆粒骨置換剤のための結合溶液。
2. 該ヒアルロン酸誘導体がヒアルロン酸エステルである請求項1の結合溶液。
3. 該ヒアルロン酸誘導体が抗生物質を配したヒアルロン酸塩である請求項1の結合溶液。
4. 該溶液が25℃の温度、相対湿度約50%で約15Pa・sから約30Pa・sまでの範囲の粘度を持つ請求項1の結合溶液。
5. 該溶液が25℃の温度、相対湿度約50%で約22Pa・sから約25Pa・sまでの範囲の粘度を持つ請求項1の結合溶液。
6. 該ヒアルロン酸エステルがヒアルロン酸の25%ベンジルエステル、ヒアルロン酸の50%ベンジルエステルおよびヒアルロン酸の50%エチルエステルから構成される群から選択されるもの少なくとも1個である請求項2の結合溶液。
7. 請求項1の結合溶液および天然または人工骨顆粒を含む顆粒骨置換剤のためのペースト。
8. 該結合溶液および該骨顆粒が約1:3w/wの比率で存在する請求項7のペースト。
9. 該骨顆粒の直径が約50μmから約5mmまでの範囲内にある請求項7のペースト。
10. 該骨顆粒が多孔質であるかまたは非多孔質である請求項7のペースト。
11. 該骨顆粒がヒドロキシアパタイト、燐酸トリカルシウムおよび炭酸カルシウムから構成される群から選択される請求項7のペースト。
12. 約16万ダルトンと約23万ダルトンとの間の分子量を持つヒアルロン酸の25%ベンジルエステルの溶液および約420μmから約1000μmまでの直径を持つヒドロキシアパタイトの顆粒を含む請求項7のペースト。
13. 約14万ダルトンと約21万ダルトンとの間の分子量を持つヒアルロン酸の50%エチルエステル溶液および約420μmから約1000μmまでの直

径を持つヒドロキシアパタイトの顆粒を含む請求項7のペースト。

14. 約14万ダルトンと約25万ダルトンとの間の分子量を持つヒアルロン酸の50%ベンジルエステルの溶液および約630μmから約1000μmまでの直径を持つ多孔性炭酸カルシウムの顆粒を含む請求項7のペースト。

15. 請求項7のペーストの有効量と損傷したまたは欠陥のある骨とを接触させることからなるヒトまたは動物の歯科または外科において損傷したまたは欠陥のある骨の修復または成長の促進方法。

明 細 書

骨置換剤のためのバイオ物質

発明の背景

発明の領域

本発明は新規バイオ物質、すなわち、顆粒状の骨置換剤のための結合溶液およびヒアルロン酸およびヒアルロン酸誘導体からなるペースト状の骨置換剤に関する。

関連技術の記載

ヒアルロン酸

ヒアルロン酸はD-グルクロン酸とN-アセチル-D-グルクロン酸との交互の残基から構成される天然ポリサッカライドの一つである。これは入手の由来、製造した方法および分子量を測定した方法に依存する広範囲の分子量を持つ線状ポリマーである。天然においては、それは細胞周囲のゲル中に、脊椎動物の結合組織の基礎的物質中に主成分として、関節の滑液中に、硝子体液中に、肺葉組織中に、および家畜のトサカ中に存在する。

明確な分子量を持つ特殊なヒアルロン酸であって、それが炎症作用を持たず、またそれ故に創傷治癒の促進または球内液の代用として使用でき、または関節炎の治療において本願出願人に付与された欧州特許第0138572号に記載のように関節内注射により使用できるものが知られている。

また、その酸のカルボキシ基の全部または一部がエステル化されているヒアルロン酸エステルおよびそれらの医薬、化粧品および生分解性プラスチックの分野における使用もこれも本願出願人に付与された米国特許第4851521号および4965353号に記載されているように知られている。

ヒアルロン酸が組織修復過程、特に肉芽組織形成の第一段階において、凝固マトリックス安定化および分解制御、多形核および単核白血球のような炎症細胞、線維芽細胞および内皮細胞のような間葉細胞の増進に向かって、および上皮細胞

の後続移動を指向して、基礎的な役割を果たすことが知られている。

床ずれ、創傷および火傷へのヒアルロン酸溶液の適用が治癒を促進することが知られている。組織修復の種々の段階におけるヒアルロン酸の役割は、理論的モデルを構成することによってWeigel, P. H. などの「炎症反応および創傷治癒過程の早期段階におけるヒアルロン酸およびフィブリンの役割についてのモデル (A model for the role of hyaluronic acid and fibrin in the early even ts during the inflammatory response and wound healing)」, J. Theor. Biol., 119巻: 219頁、1986年に記載されている。

顆粒骨置換剤

顆粒骨置換剤は広範に研究され、その生適合性および骨誘導性のために、およびそれらが歯槽骨萎縮により生じた窩、抜歯後の窩および重聴性高のような種々の形の空間を容易に満たすので歯科および眼科で使用されている。この物質を使用する時の主たる困難は適用中または適用後のいずれかに容易に除去されるようなその結合性の欠如によって起きる。この欠陥を克服するために、骨顆粒を含むペーストを製造することによる種々の型の結合剤が提案されている。フィブリンは日本特許出願60254640号および日本特許出願60254641号に記載されているように既に使用されている。

フィブリンを結合剤として使用することの短所の一つは、それがヒト由来であるために肝炎ウイルスならびにHIVその他のウイルスによる感染を起こしうることである。それ故、欧州特許出願第0416398号に記載されているようにプルラン、キチン、グリコール、カルボメチレンキチンおよびペクチンのような代用物質が提案されている。

本発明の要約

本発明の目的は全ての歯科または外科における使用のために単独または組合せにおいて使用される抗生物質とともに顆粒型の骨置換剤を結合するためのヒアルロン酸および/またはヒアルロン酸エステルまたはヒアルロン酸塩から構成され

特表平7-505643 (3)

る粘着性の溶液を提供することである。このような溶液は素晴らしい生適合性および生吸収性を持ち、感染症のような問題を起こし難い。

本発明の他の目的はヒアルロン酸および／またはヒアルロン酸エステルまたはヒアルロン酸塩を単独または組合せにおいて使用される抗生物質および骨顆粒とともに含む粘着性の液体からなるペーストを提供することである。ペーストに添加される顆粒は互いに強固に接合して歯科および骨外科におけるそれらの使用を容易にする。

本発明の別の適用性の範囲は以下に提供する詳細な記載から明白になるであろう。しかし、当業者にとってはこの詳細な記述から種々の変換および修飾が明白になるであろうから、この詳細な記載および特定の例は本発明の好適な態様を示すものではあるが、説明のためにのみ記載されるものであることを理解すべきである。

発明の詳細な説明

以下の詳細な説明は本発明を實行する当業者を援助するために提供されるものである。それでも、当分野において通常の技術を有するものが本発明の発見の真意または範囲から離れることなしに、ここに討議する態様に修飾と変換をなしうであろうから、以下の詳細な記載は本発明を不当に限定するものと解釈すべきではない。

ここに引用する参考文献は各内容全体を参考のために記載するものである。

前記目的はヒアルロン酸、ヒアルロン酸エステルまたはヒアルロン酸の塩を単独または組合せにおいて使用される抗生物質とともに水に溶解して高度に粘着性の溶液を形成することによって達成される。そのような溶液の粘度は25℃の温度および相対湿度50%±5%で少なくとも15 Pa・s、好ましくは22 Pa・s以上である。粘度が下限に近づくほど、溶液は流動性となり；粘度が大きいくほど、溶液は粘くなる。理想的な作業条件のための正しい粘度は個人に依存するパラメータであり、その個人が溶液濃度を変換することでその粘度を変更できる。この溶液に含まれる物質の分子量のこのような性質は必要とされる粘着性の程度に従って選択できる。

しペーストが容易な適用のために流動性であり過ぎたら、それを約2分間高真空下に置き、正しい粘りが得られるまでこの操作を反復することができる。

本発明で利用できる骨顆粒は特別には制限されない。一般に、既に通常に使用中的のものを使用することができる。これらのものの例は米国特許第4693986号および第4629464号に見出すことができる。顆粒の直径は50 μmと5 mmの間であることができ、また、それらは多孔質または非多孔質であることができる。生適合性について好適な物質の中にはヒドロキシアパタイト、燐酸トリカルシウムおよび炭酸カルシウムの顆粒がある。

純粋に説明的目的のために、以下に本発明の溶液およびペースト製造の数例を記載する。

ヒアルロン酸エステル

本発明において有用なヒアルロン酸のエステルはヒアルロン酸の脂肪族、芳香脂肪族、脂環またはヘテロ環アルコールとのエステルであって、その中にはヒアルロン酸のカルボキシル基全部（所謂「全エステル」）または部分的にのみ（所謂「部分エステル」）がエステル化されているもの、および部分エステルと薬理学的観点から生適合性または許容性のある金属または有機塩基との塩である。

有用なエステルは注目すべき薬理学的作用を持つアルコールから誘導されるエステルを含む。脂肪族系の飽和アルコールまたは脂環系の単純なアルコールは本発明において有用である。

前記エステルにおいてカルボキシル基のいくつかが遊離であるもの（すなわち部分エステル）では、アルカリまたはアルカリ土類金属またはアンモニウムまたは置換性有機塩基のような金属または有機塩基で塩形成しうる。

ヒアルロン酸（「HY」）のエステルは殆どがHY自身とは異なり、有機溶媒にある程度の溶解性を示す。この溶解度はエステル化されたカルボキシル基の百分率およびカルボキシル基に結合したアルキル基のタイプに依存する。故に、そのカルボキシル基が全部エステル化されたHY化合物は、室温では、例えばジメチルスルホキシドに高い溶解度を示す（HYのベンジルエステルはDMSO中で200 mg/mL程度溶解する）。HYの全エステルは殆どHYおよび特にその塩

本発明による溶液はあらかじめガンマ線で滅菌したヒアルロン酸、ヒアルロン酸の部分エステルまたはそれらの混合物、またはヒアルロン酸の塩を抗生物質またはその混合物とともに、無菌水または緩衝液に溶解することによって製造される。

本発明において使用できるヒアルロン酸のエステルは米国特許第4851521号および第4965353号およびPCT公開WO92-13579号に記載されている。本発明において抗生物質とともに使用できるヒアルロン酸の塩は米国特許第5166331号に記載されている。これらは単独または相互の種々の組合せまたはヒアルロン酸とともに使用できる。

粉末を無菌蓋下、25℃±2℃の湿度および湿度50%±5%の溶解槽に入れる。溶解は逆の方向に回転する2個の螺旋エレメントからなる混合機中で達成できる。

操作条件は所望の粘度に依存し、以下の通りであることができる：

最終粘度	溶解温度	混合機回転数	溶解時間
15 Pa・s	30℃±5℃	毎分60回転	4時間
22 Pa・s	45℃±5℃	毎分40回転	8時間

使用前に2時間真空（最低0.01ミリバール）に放置することによって溶液からすべての空気を除去する。無菌物質で製造した溶液をボアサイズ0.22 μmの濾紙を通して濾過することによって除菌することもできる。この場合、濾過を促進するために、溶液をまずその使用のために必要とするであろうよりも低粘度に調整することができる。次にこれを濾過し、続いて所期の粘度に対応する濃度に達するまで真空中に蒸留する。このようにして製造した溶液を骨顆粒と混合して骨高および欠損を満たすために使用されるペーストを形成できる。溶液の量と顆粒の量の間の比率は1:3 w/wまたはそれ以上である。もし溶液量が少な過ぎたら、顆粒は相互に結合しないので、さらに溶液を加えなければならない。も

とは異なり水には溶解度が乏しく、水には実質的に不溶性である。溶解特性は、特殊なそして注目すべき粘着性とともにHYエステルを複合膜における使用に対して特に好適にする。

複合膜における使用に対して本発明のヒアルロン酸のカルボキシル基のエステル化成分として使用される脂肪族系アルコールは、例えば最大34炭素原子を持ち、飽和または不飽和であり、アミン、ヒドロキシル、アルデヒド、ケトン、メルカプタンまたはカルボキシル基またはヒドロカルビルまたはジヒドロカルビルアミン基（以下においては用語「ヒドロカルビル」は炭化水素のC、H、...型のようない価残基のみならず、「アルキレン」C、H、...または「アルキリデン」C、H、...のような二価または三価残基を示すためにも用いる）、エーテルまたはエステル基、アセタールまたはケタール基、チオエーテルまたはチオエステル基およびエステル化カルボキシルまたはカルバミド基および1個またはそれ以上のヒドロカルビル基、ニトリル基またはハロゲンで置換されたカルバミド、のようなこれから誘導された基のような他の遊離の官能基または修飾された官能基で置換されていてもよい。

ヒドロカルビル残基を含む前記基において、それらは好ましくは最大6炭素原子を持つアルキルのような低級脂肪族残基である。このようなアルコールは炭素原子鎖中に酸素、窒素および硫黄原子のようなヘテロ原子を含みうる。好適なのは前記官能基1個または2個で置換されているアルコールである。

好ましく使用される前記群のアルコールは炭素原子最大12個、特に6個を持ち、前記アミン、エーテル、エステル、チオエーテル、チオエステル、アセタール、ケタール基におけるヒドロカルビル原子が最大4個の炭素原子を持つアルキル基を表し、また、エステル化カルボキシルまたは置換カルバミド基においてはヒドロカルビル基が同数の炭素原子を持つアルキルであり、そしてアミンまたはカルバミド基において最大8個の炭素原子を持つアルキレンアミンまたはアルキレンカルバミド基でありうる。これらアルコールについて、特に好適なのはメチル、エチル、プロピルおよびイソプロピルアルコール、ノルマルブチルアルコール、イソブチルアルコール、第3級ブチルアルコール、アミル、ペンチル、ヘキ

特表平7-505643 (4)

シル、オクチル、ノニルおよびドデシルアルコールのような飽和および非置換アルコールであり、そして、とりわけ、ノルマルオクチルおよびドデシルアルコールのように隣接鎖を持つものである。この群の置換アルコールのうちで、エチレングリコールおよびブチレングリコールのような2価アルコールは有用であり、グリセリンのような3価アルコール、タートロンアルコールのようなアルデヒドアルコール、例えばグリコール酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸など乳酸類のようなカルボキシルアルコール、ノルマルアミノエタノール、アミノプロパノール、ノルマルアミノブタノールおよびこれらのアミン官能におけるジメチル化およびジエチル化誘導体、コリン、ピロリジニルエタノール、ピペリジニルエタノール、ピペラジニルエタノールおよびノルマルプロピルまたはノルマルブチルアルコールの対応する誘導体、モノチオエチレングリコールまたはそのメルカプタン官能におけるエチル誘導体のようなアルキル化誘導体のようなアミノアルコールである。

高級飽和脂肪族アルコールのうちで、好適なのはセチルアルコールおよびミシルアルコールであるが、本発明の目的のためにはシトロネロール、ゲラニオール、ネロール、ネロリドール、リナロール、ファルネソール、フィトールのように特に多数の精油に含まれ、テルペンに親和性を持つような二重結合1個または2個を持つ高級不飽和アルコールは特に重要である。不飽和低级アルコールのうちで、アリールアルコールおよびプロパルギルアルコールは考慮する必要がある。芳香脂肪族アルコールのうちで、ベンゼン環1個のみを持ち、脂肪族鎖が最大4個の炭素原子を持ち、ベンゼン環は1個と3個との間のメチルまたはヒドロキシル基またはハロゲン原子、特に塩素、臭素およびヨード、で置換されることができ、脂肪族鎖は遊離アミン基またはモノーまたはジメチル化されたものを含む基またはピロリジンまたはピペリジン基から選ばれる官能基1個またはそれ以上で置換されうるものが好適である。これらのアルコールのうちで、最も好適なのはベンジルアルコールおよびフェニルアルコールである。

脂環または脂肪族脂環系列のアルコールはモノーまたはポリ環状炭化水素から誘導されうるし、好ましくは最大34個の炭素原子を持ちうるし、非置換および

17位におけるアルキル化誘導体、ノルゲステロール、ヒドロキシprogテストロン、コルチコステロン、デオキシコルチコステロン、19-ノルテストステロン、19-ノル-17 α -メチルテストステロンおよび19-ノル-17 α -エチニルテストステロン、シプロテロンのような抗ホルモン、コルチゾン、ヒドロキシコルチゾン、プレドニゾン、プレドニソロン、フルオロコルチゾン、デキサメタゾン、ベタメタゾン、パラメタゾン、フルメタゾン、フルオキシノロン、フルプレドニリデン、クロベタゾール、ベクロメタゾン、アルドステロン、デオキシコルチコステロン、アフラキソロン、アルファドロロンおよびボラステロンを用いることが可能である。本発明のエステルのためのエステル化成分としては次のものが有用である：ジギトキシゲニン、ギトキシゲニン、ジギキシゲニン、ストロファンチジン、チゴゲニンおよびサボニンのような強心配糖体のゲニン（アグリコン）。

本発明に従って使用される他のアルコールはアクセロフトール、ビタミンD₂とD₃、アネウリン、ラクトフラビン、アスコルビン酸、リボフラビン、チアミンおよびパントテン酸のようなビタミンの類である。

ヘテロ環状酸のうちで、次のものはもし、それらの環状または環状鎖が1個またはそれ以上、例えば1個と3個との間のヘテロ原子、例えば-O-、-S-、-N-および-NH-から形成される群から選ばれるものを含んでおり、これらの中で1個またはそれ以上の不飽和結合、例えば2重結合、殊に1個と3個との間のものがありうるので、芳香性構造を持つヘテロ環化合物を含むものを前記脂環または脂肪族脂環アルコールの誘導体として考慮することができる。例えば、以下のものに言及すべきである：フルフリルアルコール、アトロピン、スコポラミン、シンコニン、1 α シンコニジン、キニン、モルフィン、コデイン、ナロルフィン、臭化N-ブチルスコポランモニウム、アジマリンのようなアルカロイドおよび誘導体：エフェドリン、イソプロテレノール、エビネフリンのようなフェニルエチルアミン：ペルフェナジン、ピボチアジン、カルフェナジン、ホモフェナジン、アセトフェナジン、フルオフェナジンおよび塩化N-ヒドロキシエチルプロメタジンのようなフェノチアジン薬剤；フルベンチキソルおよびクロベンチキソ

脂肪族アルコールについて前記したような置換基1個またはそれ以上を含むもの。モノ環環状炭化水素から誘導されたアルコールのうちで、好適なのは最大12個の炭素原子を持ちうるし、例えば1個と3個との間のメチル、エチル、プロピルまたはイソプロピル基のような低级アルキル基で置換されうる好ましくは5個と7個との間の炭素原子を持つ環を持つものが好適である。この群の特定のアルコールとして、次のものは最も好適である：シクロヘキサノール、シクロヘキサンジオール、1, 2, 3-シクロヘキサントリオールおよび1, 3, 5-シクロヘキサントリオール（フロログリチオール）、イノシトールおよびカルボメントール、メントール、 α -ターテルピネオール、1-テルピネオール、4-テルピネオールおよびビペリトールまたは「テルピネオール」として知られているこれらのアルコールの混合物、1, 4-および1, 8-テルピンのようなp-メタンから誘導されるアルコール。チェーン、ピナンまたはコファンのような環状環を持つ炭化水素から誘導したアルコールのうちで、次のものは好適である：チュヤノール、サビノール、ピノール水和物、D-およびL-ボルネオールおよびD-およびL-イソボルネオール。

本発明のエステルのために使用されるべき脂肪族-脂環多環アルコールはステロール、コル酸および性ホルモンおよびそれらの合成環状体のようなステロイド、特にコルチコステロイドおよびその誘導体である。それ故、コレステロール、ジヒドロコレステロール、エビジヒドロコレステロール、コプロスタノール、エビコプロスタノール、シトステロール、ステグマステロール、エルゴステロール、胆汁酸、デオキシコル酸、リトコル酸、エストリオール、エストラジオール、エキレニン、エキリンおよびそれらのアルキル化誘導体ならびに17 α -エチニルエストラジオール、17 α -メチル-17 α -エストラジオールのようなそれらの17位におけるエチニルまたはプロピニル誘導体、プレグネロン、プレグナジオール、テストステロンおよび17 α -メチルテストステロン、1, 2-デヒドロテストステロンおよび17 α -メチル-1, 2-デヒドロテストステロンのようなその誘導体、17 α -エチニルテストステロン、17 α -プロピニルテストステロンのようなテストステロンおよび1, 2-デヒドロテストステロンの

のようなチオキサンテン薬剤；メプロフェンジオールのような抗炎症剤；オピブラモールのような抗精神病剤；オキシベンジルのような抗嘔吐剤；カルベチジンおよびフェノペリジンおよびメクドールのような鎮痛剤；エトドロキシジンのような催眠剤；ベンジドロールおよびジフェメトキシジンのような食欲抑制剤；ヒドロキシジンのようなマイナートランクライザー；シンナメドリン、ジフィリン、メフェネシン、メトカルバモール、クロルフェネシン、2, 2-ジエチル-1, 3-プロパンジオール、グアイフェネシン、ヒドロシラミドのような筋肉弛緩剤；ジピリグモールおよびオキシフェドリンのような冠動脈血管拡張剤；プロパノール、チモロール、ピンドロール、ブプラノール、アテノロール、メトプロロール、プラクトロールのようなアドレナリン阻害剤；6-アザウリジン、シクラビン、フロクスウリジンのような抗生物質；クロラムフェニコール、チアムフェニコール、エリスロマイシン、オレアンドマイシン、リンコマイシンのような抗生物質；イドクスウリジンのような抗ウイルス剤；イソニコチルアルコールのような抹消血管拡張剤；スロカルビレートのような炭酸アンヒドレーズ阻害剤；チアラミドのような抗嘔吐および抗炎症剤；2-p-スルファミノエタノールのようなスルファミド剤。

エステル基が治療上活性なヒドロキシル性物質2個またはそれ以上から誘導され、当然全ての可能な変種が得られるような場合にはヒアルロン酸エステルは注目される。特に興味深いものはヒドロキシル性薬剤から誘導される2種の異なるエステル基が存在し、残りのカルボキシル基は遊離であるか、金属または塩基で塩を形成し、塩基もそれ自身が、例えばエステル化成分の同一または類似の活性を持つ治療的に活性でありうる物質である。殊に、一方は前記したものの一つのような抗炎症ステロイド、他方は前記したものの一つのようなビタミンから、アルカロイドからまたは抗生物質からヒアルロン酸エステルを誘導することもできる。

本発明のHYエステルの製造法

方法A:

ヒアルロン酸のエステルはカルボン酸のエステル化のためにそれ自体公知の方

特表平7-505643 (5)

法、例えば強無機酸または酸型イオン交換剤のような触媒する物質の存在下の遊離ヒアルロン酸の所期アルコールでの処理、または無機または有機塩基の存在下の所期アルコール性残基を導入することのできるエーテル化剤での処理によって製造しうる。エステル化剤としては特に種々の無機酸のまたは有機スルホン酸のエステルのような、ヨウ化メチルまたはエチルのようなハロゲン化炭化水素である水素酸のエステル、または中性スルフェートまたは炭化水素酸、アルファイト、カーボネート、シリケート、ホスファイトまたはメチルベンゼンまたはp-トルエンスルホネートまたはクロロスルホン酸メチルまたはエチルのような炭化水素化スルホネートのような文献公知のものを使用することができる。反応は、例えばカルボキシル基に導入すべきアルキル基に対応するもののようなアルコールのような適当な溶媒中で起こしうる。しかし、反応はケトン、ジオキサンのようなエーテルのような非活性溶媒中またはジメチルスルホキシドのような非プロトン性溶媒中でも起こしうる。塩基としては、例えば、アルカリまたはアルカリ土類金属のヒドレートまたはマグネシウムまたは鉛の酸化物または炭酸塩のようなこれらの金属の塩基性塩および有機塩基のもの、ピリジンまたはコリジンのような3級窒素塩基を使用することが可能である。塩基の代わりに塩基型のイオン交換剤を使用することも可能である。

別のエステル化法では金属塩または、例えばアンモニウムまたはアンモニウム置換塩のような、有機窒素塩基との塩を採用する。好ましくは、アルカリまたはアルカリ土類金属の塩が用いられるが、他のどのような金属塩も用いうる。この場合エステル化剤も前記のものであるが、溶媒についても同様である。例えば、ジメチルスルホキシドおよびジメチルホルムアミドのような、非プロトン溶媒を用いるのが好ましい。

この操作に従ってまたは以下に記載する他の操作に従って得られたエステルにおいて、部分エステルの遊離カルボキシル基は、所望であれば、それ自体公知の方法で塩形成 (s a l i f y) しうる。

方法 B :

ヒアルロン酸エステルはヒアルロン酸の4級アンモニウム塩を、好ましくは非

プロトン性有機溶媒中で、エステル化剤で処理することから構成される方法によっても製造しうる。

有機溶媒としては、ジアルキルスルホキシド、ジアルキルカルボキサミド、特にジメチルスルホキシドである様に低級アルキルジアルキルスルホキシド、およびジメチルまたはジエチルホルムアミドまたはジメチルまたはジエチルアセトアミドのような低級脂肪族酸の低級アルキルジアルキルアミドのような非プロトン溶媒を使用することが好ましい。

しかし、アルコール、エーテル、ケトン、エステル、特にヘキサフルオロイソプロパノール、トリフルオロエタノールおよびN-メチルピリロンのような低沸点を持つ脂肪族またはヘテロ環アルコールおよびケトンのように必ずしも非プロトン性でない他の溶媒も考慮すべきである。

反応は、好ましくは約0℃と100℃との間、特に約25℃と75℃との間の範囲、例えば約30℃の温度で行う。

エステル化は、好ましくは徐々にエステル化剤を前記アンモニウム塩に前記溶媒の一つで添加することによって、実施する。

アルキル化剤としては、例えばアルキルハロゲンのような、特に炭化水素化ハロゲンである、前記のものを用いることが可能である。出発4級アンモニウム塩として、低級アンモニウムテトラアルキレート、好ましくはアルキル基が炭素原子1個と6個との間を持つもの、を用いることが好ましい。多くはヒアルロン酸テトラブチルアンモニウムを用いる。ヒアルロン酸の金属塩、好ましくは前記のもの一つ、特にナトリウムまたはカリウム塩を水溶液中で、4級アンモニウム塩で塩形成させたスルホン酸樹脂とを反応させてこれら4級アンモニウム塩を製造することが可能である。

前記操作の変種の一つはジメチルスルホキシドのような適当な溶媒中に懸濁したヒアルロン酸のカリウムまたはナトリウム塩を適当なアルキル化剤と触媒量のヨウ化テトラブチルアンモニウムのような4級アンモニウム塩の存在下に反応させることから構成される。

ヒアルロン酸エステルの製造のためには、例えば前記天然出発物質、例えば家

猪のトサカ、から抽出された酸のようにどの由来のヒアルロン酸も用いることが可能である。その酸の製造は文献に記載されており：好ましくは精製ヒアルロン酸を用いる。特に用いられるのは広範囲に分布する分子量、例えば13百万の分子量を持つ全酸の分子量の約90%~80% (MW=11.7~10.4百万) から0.2% (MW=30000) まで、好ましくは5%と0.2%との間、を持つ有機物質の抽出によって直接に得られた全酸の分子面分かなるヒアルロン酸である。この面分は加水分解、酸化、酵素的または機械的または拡散操作のような物理的操作のような文献記載の種々の操作により得られる。それ故、ブリモディアル抽出物がしばしばこれらの同じ文献操作の間に形成される (例えば、前記引用 B a l a z s などの文献「化粧品とトイレトリ (Cosmetics & Toilettries)」参照)。得られる分子面分の分離と精製は、例えば分子透過によるような公知技術で行う。

加えるに有用なのは、例えば欧州特許公開第0138572号に記載されているもののようなヒアルロン酸から得られる精製面分である。

前記特定エステル化操作のための出発塩の製造のための前記金属によるHYの塩形成は、それ自体公知の方法、例えばHYと計算量の塩基、例えばアルカリハイドレートまたはその金属の炭酸塩または重炭酸塩のような塩基性塩、とを反応させるもの、で行う。

部分エステルでは塩基量を所期の程度の塩形成が得られるようにして処方して残余のカルボキシル基全部または一部のみを塩形成させることが可能である。正しい塩形成の程度により、広範囲の種々の分離係数を持ち、それ故溶液中でまたは治療的投与の時の「インシチュ」において所期のpHを与えるエステルを得ることが可能である。

製造例

以下は本発明の複合膜に有用なヒアルロン酸エステルの製造を例示する。

実施例1 ヒアルロン酸 (HY) の (部分) プロピルエステルの製造

一エステル化カルボキシル基50%

一塩形成カルボキシル基 (Na) 50%

分子量170000を持ち、モノマー単位で20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化プロピル1.8g (10.6m. Eq.) を加え、得られる溶液を30℃の温度に12時間維持する。

水62mLおよび塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得られる混合物を攪拌し続けているアセトン3500mL中に徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を1%の塩化ナトリウムを含む水550mLに溶解し、攪拌し続けているアセトン3000mL中に溶液を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水(5:1)で2回およびアセトン500mLで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分プロピルエステル化合物7.9gが得られる。エステル基の定量をR. H. CundiiffとP. C. Markunas [Anal. Chem., 33巻, 1028~1030頁, (1961年)]の方法を用いて実施する。

実施例2 ヒアルロン酸 (HY) の (部分) イソプロピルエステルの製造一エステル化カルボキシル基50%一塩形成カルボキシル基 (Na) 50%

分子量160000を持ち、モノマー単位で20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化イソプロピル1.8g (10.6m. Eq.) を加え、得られる溶液を30℃に12時間維持する。

水62mLおよび塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得られる混合物を攪拌し続けているアセトン3500mL中に徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を1%の塩化ナトリウムを含む水550mLに溶解し、攪拌し続けているアセトン3000mL中に溶液を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で2回およびアセトン500mLで3回

洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分イソプロピルエステル化合物7.8gが得られる。エステル基の定量をR. H. CundiffとP. C. Markunas [Anal. Chem.、33巻、1028~1030頁、(1961年)]の方法を用いて実施する。

実施例3 ヒアルロン酸(HY)の(部分)エチルエステルの製造—エステル化カルボキシル基75%—塩形成カルボキシル基(Na)25%

分子量250000を持ち、モノマー単位で20m. Eq.に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化エチル2.5g(15.9m. Eq.)を加え、得られる溶液を30℃に12時間維持する。

水62mLおよび塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得られる混合物を攪拌し続けているアセトン3500mL中に徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を1%の塩化ナトリウムを含む水550mLに溶解し、攪拌し続けているアセトン3000mL中に溶液を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で2回およびアセトン500mLで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分エチルエステル化合物7.9gが得られる。エステル基の定量をR. H. CundiffとP. C. Markunas [Anal. Chem.、33巻、1028~1030頁、(1961年)]の方法を用いて実施する。

実施例4 ヒアルロン酸(HY)の(部分)メチルエステルの製造—エステル化カルボキシル基75%—塩形成カルボキシル基(Na)25%

分子量80000を持ち、モノマー単位で20m. Eq.に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化メチル2.26g(15.9m. Eq.)を加え、得られる溶液を30℃に12時間維持する。

水62mLおよび塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得られる混合物を攪

拌し続けているアセトン3500mL中に徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を1%の塩化ナトリウムを含む水550mLに溶解し、攪拌し続けているアセトン3000mL中に溶液を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で2回およびアセトン500mLで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分メチルエステル化合物7.8gが得られる。エステル基の定量をR. H. CundiffとP. C. Markunas [Anal. Chem.、33巻、1028~1030頁、(1961年)]の方法を用いて実施する。

実施例5 ヒアルロン酸(HY)のメチルエステルの製造

分子量120000を持ち、モノマー単位で20m. Eq.に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化メチル3g(21.2m. Eq.)を加え、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のエチルエステル生成物8gが得られる。エステル基の定量をR. H. CundiffとP. C. Markunas [Anal. Chem.、33巻、1028~1030頁、(1961年)]の方法を用いて実施する。

実施例6 ヒアルロン酸(HY)のエチルエステルの製造

分子量85000を持ち、モノマー単位で20m. Eq.に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化エチル3.3g(21.2m. Eq.)を加え、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に3

0℃で24時間真空乾燥する。

標記のエチルエステル生成物8gが得られる。エステル基の定量をR. H. CundiffとP. C. Markunas [Anal. Chem.、33巻、1028~1030頁、(1961年)]の方法を用いて実施する。

実施例7 ヒアルロン酸(HY)のプロピルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位で20m. Eq.に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化プロピル3.6g(21.2m. Eq.)を加え、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のプロピルエステル生成物8.3gが得られる。エステル基の定量をR. H. CundiffとP. C. Markunas [Anal. Chem.、33巻、1028~1030頁、(1961年)]の方法を用いて実施する。

実施例8 ヒアルロン酸(HY)の(部分)ブチルエステルの製造—エステル化カルボキシル基50%—塩形成カルボキシル基(Na)50%

分子量620000を持ち、モノマー単位で20m. Eq.に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化n-ブチル1.95g(10.6m. Eq.)を加え、得られる溶液を30℃に12時間維持する。

水62mLおよび塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得られる混合物を攪拌し続けているアセトン3500mL中に徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を1%の塩化ナトリウムを含む水550mLに溶解し、攪拌し続けているアセトン3000mL中に溶液を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で2回およびアセトン500mLで3回

洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分ブチルエステル化合物8gが得られる。エステル基の定量をR. H. CundiffとP. C. Markunas [Anal. Chem.、33巻、1028~1030頁、(1961年)]の方法を用いて実施する。

実施例9 ヒアルロン酸(HY)の(部分)エトキシカルボニルメチルエステルの製造—エステル化カルボキシル基75%—塩形成カルボキシル基(Na)25%

分子量180000を持ち、モノマー単位で20m. Eq.に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化テトラブチルアンモニウム2gとクロロ酢酸エチル1.84g(15m. Eq.)とを加え、得られる溶液を30℃に24時間維持する。

水62mLおよび塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得られる混合物を攪拌し続けているアセトン3500mL中に徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を1%の塩化ナトリウムを含む水550mLに溶解し、攪拌し続けているアセトン3000mL中に溶液を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で2回およびアセトン500mLで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分エトキシカルボニルメチルエステル化合物10gが得られる。

エトキシ性エステル基の定量をR. H. CundiffとP. C. Markunas [Anal. Chem.、33巻、1028~1030頁、(1961年)]の方法を用いて実施する。

特表平7-505643 (7)

実施例10 ヒアルロン酸(HY)のn-ペンチルエステルの製造

分子量620000を持ち、モノマー単位で20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、臭化n-ペンチル3.8g(25m. Eq.)とヨウ化テトラブチルアンモニウム0.2gを加え、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のn-ペンチルエステル生成物8.7gが得られる。エステル基の定量をSiggia, S. とHann, J. G. 「官能基による有機定量分析(Quantitative organic analysis via functional groups)」, 第4版, John·Wiley·and·Sons, 169~172頁に記載の方法を用いて実施する。

実施例11 ヒアルロン酸(HY)のイソペンチルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位で20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、臭化イソペンチル3.8g(25m. Eq.)とヨウ化テトラブチルアンモニウム0.2gを加え、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標題に示したイソペンチルエステル生成物8.6gが得られる。エステル基の定量をSiggia, S. とHann, J. G. 「官能基による有機定量分析」, 第4版, John·Wiley·and·Sons, 169~172頁に記載の方法を用いて実施する。

実施例12 ヒアルロン酸(HY)のベンジルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位で20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25

℃で溶解し、臭化ベンジル4.5g(25m. Eq.)とヨウ化テトラブチルアンモニウム0.2gを加え、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のベンジルエステル生成物9gが得られる。エステル基の定量をSiggia, S. とHann, J. G. 「官能基による有機定量分析」, 第4版, John·Wiley·and·Sons, 169~172頁に記載の方法を用いて実施する。

実施例13 ヒアルロン酸(HY)のβ-フェニルエチルエステルの製造

分子量125000を持ち、モノマー単位で20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、2-ブロモエチルベンゼン4.6g(25m. Eq.)とヨウ化テトラブチルアンモニウム185mgを加え、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のβ-フェニルエチルエステル9.1gが得られる。エステル基の定量をSiggia, S. とHann, J. G. 「官能基による有機定量分析」, 第4版, John·Wiley·and·Sons, 168~172頁に記載の方法を用いて実施する。

実施例14 ヒアルロン酸(HY)のベンジルエチルエステルの製造

分子量162000を持つHYカリウム塩3gをジメチルスルホキシド200mLに懸濁し、ヨウ化テトラブチルアンモニウム120mgおよび臭化ベンジル2.4gを添加する。

懸濁液を30℃で48時間攪拌し続ける。攪拌し続けている酢酸エチル1000mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、150mLの酢酸エチルで4回洗浄し、最後に30℃で24時間減圧乾燥する。

標題のベンジルエステル3.1gが得られる。エステル基の定量はSiggia, S. とHann, J. G. の方法「官能基による有機定量分析」, 第4版, John·Wiley·and·Sonsの169~172頁を使用して実施する。

実施例15 ヒアルロン酸(HY)の(部分プロピル)エステルの製造—エステル化カルボキシル基85%—塊形成カルボキシル基(Na)15%

分子量1651000を持ち、モノマー単位20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、ヨウ化プロピル2.9g(17m. Eq.)を添加し、得られる溶液を30℃に24時間維持する。

溶液に水62mLおよび塩化ナトリウム9gを添加し、攪拌し続けているアセトン3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間減圧乾燥する。

次に生成物を塩化ナトリウム1%を含む水550mLに溶解し、攪拌し続けているアセトン3000mL中に溶液を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、500mLのアセトン/水5:1で2回およびアセトン500mLで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標題の部分プロピルエステル化合物8gが得られる。エステル基の定量はR. H. CundiffとP. C. Markunasの方法[Anal. Chem., 33巻, 1028~1030頁(1961年)]を使用して実施する。

実施例16 ヒアルロン酸(HY)のn-オクチルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド200mLに25℃で溶解し、1-ブロモオクタン4.1g(21.2m. Eq.)を添加し、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に3

0℃で24時間減圧乾燥する。標題のオクチルエステル生成物9.3gが得られる。エステル基の定量はSiggia, S. とHann, J. G. の方法「官能基による有機定量分析」, 第4版, John·Wiley·and·Sonsの169~172頁を使用して実施する。

実施例17 ヒアルロン酸(HY)のイソプロピルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド620mLに25℃で溶解し、臭化イソプロピル2.6g(21.2m. Eq.)を添加し、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間減圧乾燥する。標題のイソプロピルエステル生成物8.3gが得られる。エステル基の定量はR. H. CundiffとP. C. Markunasの方法[Anal. Chem., 33巻, 1028~1030頁(1961年)]を使用して実施する。

実施例18 ヒアルロン酸(HY)の2,6-ジクロロベンジルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位20m. Eq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド200mLに25℃で溶解し、臭化2,6-ジクロロベンジル5.08g(21.2m. Eq.)を添加し、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間減圧乾燥する。標題の2,6-ジクロロベンジルエステル生成物9.7gが得られる。エステル基の定量はSiggia, S. とHann, J. G. の方法「官能基による有機定量分析」, 第4版, John·Wiley·and·Sonsの169~172頁を使用して実施する。

実施例19 ヒアルロン酸(HY)の4-テトラブチルベンジルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位20m. Eq. に対応するHYテト

ラブリアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド200mLに25℃で溶解し、臭化4-テトラブチルベンジル4.81g(21.2mEq.)を添加し、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間減圧乾燥する。標題の4-テトラブチルベンジルエステル生成物9.8gが得られる。エステル基の定量はSiggia, S. とHanna, J. G. の方法「官能基による有機定量分析」、第4版、John・Wiley・and・Sons の169～172頁を使用して実施する。

実施例20 ヒアルロン酸(HY)のヘプタデシルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位20mEq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド200mLに25℃で溶解し、臭化ヘプタデシル6.8g(21.2mEq.)を添加し、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間減圧乾燥する。標題のヘプタデシルエステル生成物11gが得られる。エステル基の定量はSiggia, S. とHanna, J. G. の方法「官能基による有機定量分析」、第4版、John・Wiley・and・Sons の169～172頁を使用して実施する。

実施例21 ヒアルロン酸(HY)のオクタデシルエステルの製造

分子量170000を持ち、モノマー単位20mEq. に対応するHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gをジメチルスルホキシド200mLに25℃で溶解し、臭化オクタデシル7.1g(21.2mEq.)を添加し、溶液を30℃に12時間維持する。

攪拌し続けている酢酸エチル3500mL中に得られる混合物を徐々に注入する。沈殿が生じ、これを濾過し、酢酸エチル500mLで4回洗浄し、最後に30℃で24時間減圧乾燥する。標題のオクタデシルエステル生成物11gが得ら

れる。エステル基の定量はSiggia, S. とHanna, J. G. の方法「官能基による有機定量分析」、第4版、John・Wiley・and・Sons の169～172頁を使用して実施する。

実施例22 ヒアルロン酸(HY)の3-フェニルプロピルエステルの調製

分子量170,000のHYテトラブチルアンモニウム塩を12.4g、即ち単量体単位で20mEq. 相当量を620mlのジメチルスルホキシドに25℃で溶解し、4.22gの3-フェニルプロピルブロミド(21.2mEq.)を加えて、溶液を30℃で12時間保持する。

得られた混合液を一定の割合で薄ぼろしながら徐々に3,500mlの酢酸エチルに注ぐ。生成した沈殿物を濾取し、500mlの酢酸エチルで4回洗浄して最終に30℃で24時間真空乾燥する。標題の3-フェニルプロピルエステル生成物が9g得られる。Siggia S. 及びHanna J. G. の方法("Quantitative organic analysis via functional groups", 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172)を用いてエステル基を定量する。

実施例23 ヒアルロン酸(HY)の3,4,5-トリメトキシベンジルエステルの調製

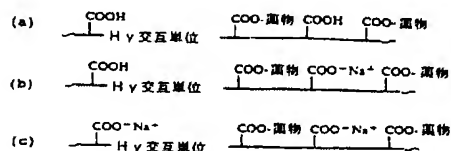
分子量170,000のHYテトラブチルアンモニウム塩を12.4g、即ち単量体単位で20mEq. 相当量を620mlのジメチルスルホキシドに25℃で溶解し、4.6gの3,4,5-トリメトキシベンジクロリド(21.2mEq.)を加えて、溶液を30℃で12時間保持する。

得られた混合液を一定の割合で薄ぼろしながら徐々に3,500mlの酢酸エチルに注ぐ。生成した沈殿物を濾取し、500mlの酢酸エチルで4回洗浄して最終に30℃で24時間真空乾燥する。標題の3,4,5-トリメトキシベンジルエステル生成物が10g得られる。Siggia S. 及びHanna J. G. の方法("Quantitative organic analysis via functional groups", 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172)を用いてエステル基を定量する。

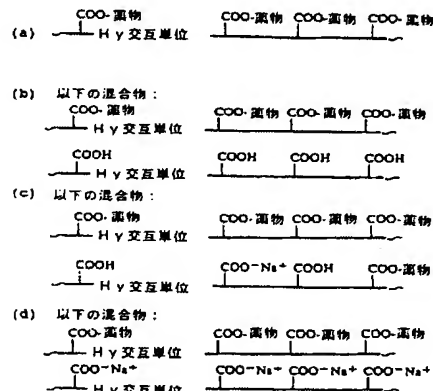
実施例24 ヒアルロン酸(HY)のシナミルエステルの調製

分子量170,000のHYテトラブチルアンモニウム塩を12.4g、即ち単量体単位で20mEq. 相当量を620mlのジメチルスルホキシドに25℃で溶解し、4.2gのシナミルブロミド(21.2mEq.)を加えて、溶液を30℃で12時間保持する。

複合体。これらの複合体は次の様に示される：



塩基性薬物成分によるHYの化学量論的中性塩を用い、さらに多量の薬物成分を添加したヒアルロン酸及び抗生物質の複合体。これらは次の様に示される：



得られた混合液を一定の割合で薄ぼろしながら徐々に3,500mlの酢酸エチルに注ぐ。生成した沈殿物を濾取し、500mlの酢酸エチルで4回洗浄して最終に30℃で24時間真空乾燥する。標題のシナミルエステル生成物が9.3g得られる。Siggia S. 及びHanna J. G. の方法("Quantitative organic analysis via functional groups", 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172)を用いてエステル基を定量する。

実施例25 ヒアルロン酸(HY)のデシルエステルの調製

分子量170,000のHYテトラブチルアンモニウム塩を12.4g、即ち単量体単位で20mEq. 相当量を620mlのジメチルスルホキシドに25℃で溶解し、4.7gの1-ブロモデカン(21.2mEq.)を加えて、溶液を30℃で12時間保持する。

得られた混合液を一定の割合で薄ぼろしながら徐々に3,500mlの酢酸エチルに注ぐ。生成した沈殿物を濾取し、500mlの酢酸エチルで4回洗浄して最終に30℃で24時間真空乾燥する。標題のデシルエステル生成物が9.5g得られる。Siggia S. 及びHanna J. G. の方法("Quantitative organic analysis via functional groups", 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172)を用いてエステル基を定量する。

実施例26 ヒアルロン酸(HY)のノニルエステルの調製

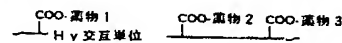
分子量170,000のHYテトラブチルアンモニウム塩を12.4g、即ち単量体単位で20mEq. 相当量を620mlのジメチルスルホキシドに25℃で溶解し、4.4gの1-ブロモノナン(21.2mEq.)を加えて、溶液を30℃で12時間保持する。

得られた混合液を一定の割合で薄ぼろしながら徐々に3,500mlの酢酸エチルに注ぐ。生成した沈殿物を濾取し、500mlの酢酸エチルで4回洗浄して最終に30℃で24時間真空乾燥する。標題のノニルエステル生成物が9g得られる。Siggia S. 及びHanna J. G. の方法("Quantitative organic analysis via functional groups", 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172)を用いてエステル基を定量する。

塩基性薬物有効成分によるヒアルロン酸の部分塩を用い、金属または増基によりヒアルロン酸の酸性残基を除去または中和したヒアルロン酸及び抗生物質の

特表平7-505643 (9)

塩基性薬物成分によるHYの化学量論的中性塩を用い、さらに多量の薬物成分を添加したヒアルロン酸及び抗生物質の複合体。これらは次の様に示される：
種々の薬物成分の任意の混合物によるHYの化学量論的中性塩を用いたヒアルロン酸及び抗生物質の複合体。これらは次の様に示される：



上に示した可能な薬剤のいずれの混合物も本発明で使用できる。

有効成分の例

本発明で使用可能な薬物には様々な種類が考え得るが、本質的に塩基性であり、第一、第二、第三もしくは第四級アミンが存在し、薬物の塩基性アミン部位はヒアルロン酸分子酸性部位と結合する。本発明による薬剤で使用される薬理活性物質の例としては、塩基性及び非塩基性抗生物質、例えばアミノ糖系薬剤、マクロライド系薬剤、テトラサイクリン系薬剤及びペプチド系薬剤、その具体例としてゲンタマイシン、ネオマイシン、ストレプトマイシン、ジヒドロストレプトマイシン、カナマイシン、アミカシン、トブラマイシン、スペクチノマイシン、エリスロマイシン、ロリテトラサイクリン、バシトラシン、ポリミキシンB、グラミジシン、コリスチン、クロラムフェニコール、リンコマイシン、バンコマイシン、ノボピオシン、リストセチン、クリンダマイシン、アムホテリシンB、グリセオフルビン、ナイスタチン、もしくは以下に示す様な同一有効成分間または他の有効成分との結合物がある。

本発明により有利に使用されるその他の薬剤としては、ジエチルカルバマジン、メベンダゾール、などのその他の抗感染薬、スルファセタミド、スルファジアジン、スルフィソキサゾールなどのサルファ剤：ヨードデオキシウリジン、アデニンアラビノシド、アシクロビル、エチルデオキシウリジン、プロモビニルデオキシウリジン及び5'-ヨード-5'-アミノ-2',5'-デオキシウリジンがある。

これらの薬物の同一成分及び考え得る他の成分との結合物または混合物もまた本発明に従い抗生物質として使用される。単一の有効物質ではなく複数の有効物

結乾燥する。このようにして得られた塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がストレプトマイシンの塩基性官能基と塩を形成する。収量：5.5g

ストレプトマイシン標準物を対照としてB. subtilis ATCC上で微生物学的定量を行ったところ、ストレプトマイシン塩基の重量として33.8%の含有量が認められ、理論計算上の重量と一致した。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多量に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、重量でヒアルロン酸65.2%の含有量が認められる(理論% - 66.0%)。

実施例2.8 エリスロマイシンとヒアルロン酸(HY)の塩の調製

分子量77,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10mEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。ナトリウムを除いた溶出物を5℃に保つ。

7.34gのエリスロマイシン塩基(10mEq)を5℃で復はんしながら完全に可溶化するまでHY溶液に加える。得られた溶液を凍結し、凍結乾燥する。このようにして得られた塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がエリスロマイシンと塩を形成する。収量：10.8g

エリスロマイシン標準物を対照としてSt. aureus ATCC6538 P上で微生物学的定量を行ったところ、エリスロマイシン塩基の重量として66.0%の含有量が認められ、理論値と一致した。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多量に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、34.0%のヒアルロン酸含有量が認められ、理論計算で求めた%と一致する。

実施例2.9 カナマイシンとヒアルロン酸(HY)の塩の調製

1.46gのカナマイシン硫酸塩(10mEq)を25mlの蒸留水に溶解する。この溶液を15mlのOH-型四級アンモニウム樹脂(Dowex 1×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。硫酸塩を除いた溶出物をサーモスタット容器内に5℃で回収する。

分子量255,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10mEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×

質、例えば上述の物質についての結合物または混合物を使用する場合、塩基性有効物質とヒアルロン酸並びにその分子分種の塩とは、これら塩基物質のうちの1つ以上の混合塩であるか、または金属や塩基と塩形成した多量種の残りの酸性基のうち一定量とこの種の物質との混合塩を意味する。

抗生物質のうち、次のものは特に重要である。エリスロマイシン、バシトラシン、ゲンタマイシン、ネオマイシン、オーレオマイシン、グラミジシン及びそれらの結合物：ニトロフラゾン、マフェジド、クロルヘキシジン及び8-ヒドロキキノリンの誘導体及びそれらの塩。このリストはもちろんほんの一隅であり、既知または文献に記載されているその他のあらゆる抗生物質が用いられる。

本発明における抗生物質のヒアルロン酸塩の調製方法

本発明による抗生物質塩の調製は、自体既知の方法で行われる。即ち、計算上求められた量を添加した成分の溶液または懸濁液(水中または有機溶媒中)を組合せ、自体既知の方法に従い無定形無水物として塩を単離する。塩基またはアルカリまたはアルカリ土類金属、マグネシウム、アルミニウムまたはアンモニウムとの塩基性塩を利用することも可能である。例えば、(a)最初に二成分の水溶液を調製し、(b)イオン交換体で処理するために各々の金属塩(例えば硫酸塩及びナトリウム塩)の酸によりこれら成分の水溶液から成分を凝固させ、(c)低温、例えば0℃-20℃で2溶液を混合する。こうして得られた塩が水に溶け易い場合、凍結乾燥をしなければならないが、水に容易に溶けない塩は、遠心分離、濾過またはデカンテーション、次にできるだけ乾燥させることにより分離される。

実施例2.7 ストレプトマイシンとヒアルロン酸(HY)の塩の調製

2.43gのストレプトマイシン硫酸塩(10mEq)を25mlの蒸留水に溶解する。この溶液を15mlのOH-型四級アンモニウム樹脂(Dowex 1×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。脱液溶出物をサーモスタット容器内に5℃で回収する。

分子量255,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10mEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。脱液溶出物をストレプトマイシン塩基溶液を復はんしながら回収する。得られた溶液を凍結し、直ちに凍

8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。ナトリウムを除いた溶出物をカナマイシン塩基溶液内で、ボルテックスミキサーで復はんしながら回収する。得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量：4.8g。得られた塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がカナマイシンと塩を形成する。

カナマイシン標準物を対照としてB. subtilis ATCC 6633上で微生物学的定量を行ったところ、カナマイシン塩基の重量として24.2%の含有量が認められ、理論計算で求めた%と一致する。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多量に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、重量でヒアルロン酸75.8%の含有量が認められ、理論含有量と一致する。

実施例3.0 ネオマイシンとヒアルロン酸(HY)の塩の調製

1.52gのネオマイシン硫酸塩(10mEq)を20mlの蒸留水に溶解し、15mlのOH-型四級アンモニウム樹脂(Dowex 1×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。硫酸塩を除いた溶出物をサーモスタット容器内に5℃で回収する。

分子量170,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10mEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解し、15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。ナトリウムを除いた溶出物をネオマイシン塩基溶液内で復はんしながら回収する。生成した粘弾性沈澱物をデカンテーションにより分離し、凍結乾燥する。収量：4.76g。塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がネオマイシンと塩を形成する。

ネオマイシン標準物を対照としてSt. aureus ATCC 6538P上で微生物学的定量を行うと、ネオマイシン塩基の重量として21.2%の含有量が認められ、理論計算で求めた%と一致する。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多量に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、78.8%のヒアルロン酸含有量が認められる。

実施例3.1 ゲンタマイシンとヒアルロン酸(HY)の塩の調製

1.45gのゲンタマイシン硫酸塩(10mEq)を25mlの蒸留水に溶解する。この溶液を15mlのOH-型四級アンモニウム樹脂(Dowex 1×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。硫酸塩を除いた溶出物をサーモスタット容器内に5℃で回収

特表平7-505643 (10)

する。

分子量170,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10μEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。ナトリウムを除いた溶出物をネオマイシン塩基溶液内で、ボルテックスミキサーで攪はんしながら回収する。生成した厚くて粘性の高い沈殿物をデカンテーションにより分離し、凍結乾燥する。収量: 4.65g。ここで得られた塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がゲンタマイシンと塩を形成する。

ゲンタマイシン標準物を対照として*S. epidermidis* ATCC 12228上で微生物学的定量を行うと、ネオマイシン塩基の重量として20.0%の含有量が認められ、理論含有量と一致する。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多糖内に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、80.0%のヒアルロン酸含有量が認めらる。

実施例3.2 アミカシンとヒアルロン酸(HV)の塩の調製

1.47gのアミカシン硫酸塩(10μEq)を100mlの蒸留水に5℃で溶解する。

分子量170,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10μEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。

ナトリウムを除いた溶出物をアミカシン塩基溶液内で、ボルテックスミキサーで攪はんしながら回収する。生成した厚くて極めて粘性の高い沈殿物をデカンテーションにより分離し、凍結乾燥する。収量: 5.16g。

ここで得られた塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がアミカシンと塩を形成する。

アミカシン標準物を対照として*St. aureus* ATCC 29737上で微生物学的定量を行うと、アミカシン塩基の重量として27.7%の含有量が認められ、理論含有量と一致する。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多糖内に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、72.3%のヒアルロン酸含有量が認めらる。

量が認めらる。

実施例3.5 グラミジジンSとヒアルロン酸(HV)の塩の調製

6.7gの塩酸グラミジジンS(10μEq)を200mlのエタノール/B20、80:20、V/Vに懸濁する。次にこの溶液を15mlのOH-型四級アンモニウム樹脂(Dowex 1×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。

分子量165,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10μEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。200mlのDMSOをナトリウムを除いた溶出物に加え、この混合物を攪はんしながら5℃に保つ。グラミジジンS塩基の溶液を徐々に加える。得られた溶液に10容積のアセトンを加えて沈殿を得る。この沈殿物を濾過し、アセトンで洗浄して真空乾燥する。収量: 9.55g。ここで得られた塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がグラミジジンSと塩を形成する。

グラミジジンS標準物を対照として*S. faecium* ATCC 10541上で微生物学的定量を行うと、ポリミキシンB塩基の含有量として60.0%が認められ、理論含有量と一致する。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多糖内に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、40.0%のヒアルロン酸含有量が認めらる。

実施例3.6 ネオマイシン及びポリミキシンとヒアルロン酸(HV)の塩の調製

分子量170,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10μEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。この溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。ナトリウムを除いた溶出物はサーモスタット容器内に5℃で回収する。0.150gのポリミキシンB塩基(0.63μEq)を激しく攪はんしながら加える。1.425gのネオマイシン硫酸塩(9.37μEq)を蒸留水に溶解する。この溶液を15mlのOH-型四級アンモニウム樹脂(Dowex 1×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。

硫酸塩を除いた溶出物をヒアルロン酸とポリミキシンB溶液を激しく攪はんしながら加える。生成する沈殿物を遠心分離により分離し、真空乾燥する。収量:

実施例3.3 ロリテトラサイクリンとヒアルロン酸(HV)の塩の調製

分子量170,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10μEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。ナトリウムを除いた溶出物は5℃で保存する。

5.3gのロリテトラサイクリン塩基を完全に可溶化するまで、遮光下で攪はんしながら5℃でヒアルロン酸溶液に添加する。ここで得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 8.9g。ここで得られた塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がロリテトラサイクリンと塩を形成する。

ロリテトラサイクリン標準物を対照として*B. pusillus* ATCC 14884上で微生物学的定量を行うと、ロリテトラサイクリン塩基の重量として58.2%の含有量が認められ、理論値と一致する。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多糖内に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、41.8%のヒアルロン酸含有量が認めらる。

実施例3.4 ポリミキシンBとヒアルロン酸(HV)の塩の調製

2.4gのポリミキシンB塩基(10μEq)を100mlの蒸留水に5℃で懸濁する。

分子量170,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位10μEqに相当)を400mlの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を15mlのH+型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。ナトリウムを除いた溶出物を5℃でロリテトラサイクリン塩基懸濁液をボルテックスミキサーで攪はんしながら回収する。最初の段階で溶液は透明になり、その後懸濁性であるが5mlのアセトンには完全に溶ける形成物が認められる。沈殿物を濾過し、アセトンで洗浄してから真空乾燥する。収量: 6.05g。ここで得られた塩は、ヒアルロン酸の全ての酸性基がポリミキシンBと塩を形成する。

ポリミキシンB標準物を対照として*B. bronchiseptica* ATCC 4617上で微生物学的定量を行うと、ポリミキシンB塩基の含有量として38.7%が認められ、理論含有量と一致する。Bitterらの方法(Anal. Biochem. 4, 330, 1962)に従って多糖内に結合しているグルクロン酸の比色定量を行うと、61.3%のヒアルロン酸含有

4.85g。この生成物17.25gは、

5.0μgネオマイシン硫酸塩等量のネオマイシン

0.63μgポリミキシンB(およそ50000IU)等量のポリミキシンB

を含む。

注意

定量は、2つの有効成分をHPLCで分離後実施した。

特表平7-505643 (11)

実施例37 ストレプトマイシン及びナトリウムヒアルロン酸(HY)の塩の調製

分子量255,000のヒアルロン酸ナトリウム塩4.0g(単量体単位246Eqに相当)を8.5lの蒸留水に溶解する。次にこの溶液を300mlのH型スルホン基樹脂(Dowex 50×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。ナトリウムを除いた溶出物はサーモスタット容器内に5℃で回収する。

1.88gのストレプトマイシン硫酸塩(7.74Eq)を20mlの蒸留水に溶解する。この溶液を12mlの001-型四級アンモニウム樹脂(Dowex 1×8)を含むサーモスタットカラムより5℃で溶出させる。硫酸塩を除いた溶出物をヒアルロン酸溶液を復はんしながら回収する。238.3mlの1N NaOHを復はんしながら徐々に加え、得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 5.5g。100gの生成物は塩基として1.5gのストレプトマイシンを含む。

実施例38

分子量160,000-230,000ダルトン、見かけの直径420-1,000μmのハイドロキシアパタイトの顆粒を有するヒアルロン酸の25%ベンジルエステル、HYAFF1p25を含む粘状物を次の方法で得た。

強度1.25Mradのγ線で滅菌した5gのHYAFF1p25を50gの滅菌水に添加した。この系をダブルスパイラルミキサーで40rpmで処理した。温度を30℃±2℃に保ち、8時間で可溶化した。次にこの溶液を0.01mbarの高真空下に2時間置き、溶解している空気を除去した。得られた粘性は23Pa.s.であった。

次に、1gの溶液に0.5gの市販のハイドロキシアパタイト("INTERPORE200")を加え、この混合物を均一な粘状物が得られるまでへらでかき混ぜた。顆粒が互いに結合し、術中または術後時に顆粒状骨代替物が脱落する危険性なく空洞内に容易に挿入される材料が形成された。

実施例39

分子量140,000-210,000ダルトン、見かけの直径420-1,000μmのハイドロキシアパタイトの顆粒を有するヒアルロン酸の50%エチルエステル、HYAFF 7p50を含む粘状物を次の方法で得た。

を加え、この混合物を均一な粘状物が得られるまでへらでかき混ぜた。顆粒が互いに結合し、術中または術後時に顆粒状骨代替物が脱落する危険性なく空洞内に容易に挿入される材料が形成された。

実験動物及び処理法

ハイドロキシアパタイトの保持期間を促進し取扱易くするために、上記の調製法を用いて空洞に新鮮歯の抽出部位を充填した。実験動物としてビーグル犬を使用した。上顎及び下顎切歯を除去し、各動物に上顎6本、下顎6本、12の欠損を授受させた。次に、根間中隔を除去して欠損部の容積を増大させた。抽出部位を上述の調製法でインプラントし、またはコントロールとして空洞のまま残すかハイドロキシアパタイト顆粒を充填した。動物を術後1,2及び3ヶ月後に屠殺した。屠殺時に、上顎動脈からカニューレを挿入してKarnovsky固定液を注入する灌流法を用いて組織固定を行った。

本試験の結果、ヒアルロン酸-ハイドロキシアパタイト結合物は容易に使用して新鮮歯の充填を行えることが示された。この混合物は骨欠損部位にin situで手法による挿入または圧力下で注入することができる。粒子の保持が成されて時間が確保され、結合溶液が再吸収されて骨の内成長が更新した。

ここで説明した本発明については、多方面にわたり同方法に変更が加えられることは明かである。これらの変更事項は、本発明の趣旨及び範囲から逸脱しているとは認められず、この様なあらゆる改良で技術的に明らかに向上したと思われるものは、次に示す請求の範囲に含まれるものとする。

強度1.25Mradのγ線で滅菌した7gのHYAFF 7p50を50gの滅菌水に添加した。この系をダブルスパイラルミキサーで40rpmで処理した。温度を40℃±2℃に保ち、8時間で可溶化した。可溶化後、この溶液を0.01mbarの高真空下に2時間置き、溶解している空気を除去した。得られた粘性は25Pa.s.であった。

次に、1gのこの溶液に0.4gの市販のハイドロキシアパタイト("INTERPORE200")を加え、この混合物を均一な粘状物が得られるまでへらでかき混ぜた。顆粒が互いに結合し、術中または術後時に顆粒状骨代替物が脱落する危険性なく空洞内に容易に挿入される材料が形成された。

実施例40

分子量140,000-250,000ダルトン、ポアサイズ630-1,000μmの多孔性炭酸カルシウムの顆粒を有するヒアルロン酸の50%ベンジルエステル、HYAFF1p50を含む粘状物を次の方法で得た。

強度1.25Mradのγ線で滅菌した6gのHYAFF1p50を50gの滅菌水に添加した。この系をダブルスパイラルミキサーで40rpmで処理した。温度を40℃±2℃に保ち、6時間で可溶化した。可溶化後、この溶液を0.01mbarの高真空下に2時間置き、溶解している空気を除去した。得られた粘性は21Pa.s.であった。

次に、1gのこの溶液に0.6gの市販の炭酸カルシウム("BIODURAL1000")を加え、この混合物を均一な粘状物が得られるまでへらでかき混ぜた。顆粒が互いに結合し、術中または術後時に顆粒状骨代替物が脱落する危険性なく空洞内に容易に挿入される材料が形成された。

実施例41

分子量140,000-180,000ダルトン、見かけの直径420-1,000μmのハイドロキシアパタイトの顆粒を有するヒアルロン酸を含む粘状物を次の方法で得た。

フィルター滅菌した7gのヒアルロン酸を50gの滅菌水に添加した。この系をダブルスパイラルミキサーで40rpmで処理した。温度を25℃に保ち、16時間で可溶化した。次にこの溶液を高真空下に2時間置き、溶解している空気を除去した。得られた粘性は24.7Pa.s.であった。

次に、1gのこの溶液に0.4gの市販のハイドロキシアパタイト("Interpore200")

国際調査報告

PCT/EP 93/00933

1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		International Application No.	PCT/EP 93/00933
Inventor(s): 5 A61L27/00		Address for correspondence: (IPC) or to the Patent Office	
2. PRIOR ART		3. INFORMATION ON THE INVENTION	
4. CLAIMS		5. ABSTRACT	
6. STATEMENTS OF THE INVENTION		7. STATEMENTS OF THE INVENTION	
8. STATEMENTS OF THE INVENTION		9. STATEMENTS OF THE INVENTION	
10. STATEMENTS OF THE INVENTION		11. STATEMENTS OF THE INVENTION	
12. STATEMENTS OF THE INVENTION		13. STATEMENTS OF THE INVENTION	
14. STATEMENTS OF THE INVENTION		15. STATEMENTS OF THE INVENTION	
16. STATEMENTS OF THE INVENTION		17. STATEMENTS OF THE INVENTION	
18. STATEMENTS OF THE INVENTION		19. STATEMENTS OF THE INVENTION	
20. STATEMENTS OF THE INVENTION		21. STATEMENTS OF THE INVENTION	
22. STATEMENTS OF THE INVENTION		23. STATEMENTS OF THE INVENTION	
24. STATEMENTS OF THE INVENTION		25. STATEMENTS OF THE INVENTION	
26. STATEMENTS OF THE INVENTION		27. STATEMENTS OF THE INVENTION	
28. STATEMENTS OF THE INVENTION		29. STATEMENTS OF THE INVENTION	
30. STATEMENTS OF THE INVENTION		31. STATEMENTS OF THE INVENTION	
32. STATEMENTS OF THE INVENTION		33. STATEMENTS OF THE INVENTION	
34. STATEMENTS OF THE INVENTION		35. STATEMENTS OF THE INVENTION	
36. STATEMENTS OF THE INVENTION		37. STATEMENTS OF THE INVENTION	
38. STATEMENTS OF THE INVENTION		39. STATEMENTS OF THE INVENTION	
40. STATEMENTS OF THE INVENTION		41. STATEMENTS OF THE INVENTION	
42. STATEMENTS OF THE INVENTION		43. STATEMENTS OF THE INVENTION	
44. STATEMENTS OF THE INVENTION		45. STATEMENTS OF THE INVENTION	
46. STATEMENTS OF THE INVENTION		47. STATEMENTS OF THE INVENTION	
48. STATEMENTS OF THE INVENTION		49. STATEMENTS OF THE INVENTION	
50. STATEMENTS OF THE INVENTION		51. STATEMENTS OF THE INVENTION	
52. STATEMENTS OF THE INVENTION		53. STATEMENTS OF THE INVENTION	
54. STATEMENTS OF THE INVENTION		55. STATEMENTS OF THE INVENTION	
56. STATEMENTS OF THE INVENTION		57. STATEMENTS OF THE INVENTION	
58. STATEMENTS OF THE INVENTION		59. STATEMENTS OF THE INVENTION	
60. STATEMENTS OF THE INVENTION		61. STATEMENTS OF THE INVENTION	
62. STATEMENTS OF THE INVENTION		63. STATEMENTS OF THE INVENTION	
64. STATEMENTS OF THE INVENTION		65. STATEMENTS OF THE INVENTION	
66. STATEMENTS OF THE INVENTION		67. STATEMENTS OF THE INVENTION	
68. STATEMENTS OF THE INVENTION		69. STATEMENTS OF THE INVENTION	
70. STATEMENTS OF THE INVENTION		71. STATEMENTS OF THE INVENTION	
72. STATEMENTS OF THE INVENTION		73. STATEMENTS OF THE INVENTION	
74. STATEMENTS OF THE INVENTION		75. STATEMENTS OF THE INVENTION	
76. STATEMENTS OF THE INVENTION		77. STATEMENTS OF THE INVENTION	
78. STATEMENTS OF THE INVENTION		79. STATEMENTS OF THE INVENTION	
80. STATEMENTS OF THE INVENTION		81. STATEMENTS OF THE INVENTION	
82. STATEMENTS OF THE INVENTION		83. STATEMENTS OF THE INVENTION	
84. STATEMENTS OF THE INVENTION		85. STATEMENTS OF THE INVENTION	
86. STATEMENTS OF THE INVENTION		87. STATEMENTS OF THE INVENTION	
88. STATEMENTS OF THE INVENTION		89. STATEMENTS OF THE INVENTION	
90. STATEMENTS OF THE INVENTION		91. STATEMENTS OF THE INVENTION	
92. STATEMENTS OF THE INVENTION		93. STATEMENTS OF THE INVENTION	
94. STATEMENTS OF THE INVENTION		95. STATEMENTS OF THE INVENTION	
96. STATEMENTS OF THE INVENTION		97. STATEMENTS OF THE INVENTION	
98. STATEMENTS OF THE INVENTION		99. STATEMENTS OF THE INVENTION	
100. STATEMENTS OF THE INVENTION		101. STATEMENTS OF THE INVENTION	
102. STATEMENTS OF THE INVENTION		103. STATEMENTS OF THE INVENTION	
104. STATEMENTS OF THE INVENTION		105. STATEMENTS OF THE INVENTION	
106. STATEMENTS OF THE INVENTION		107. STATEMENTS OF THE INVENTION	
108. STATEMENTS OF THE INVENTION		109. STATEMENTS OF THE INVENTION	
110. STATEMENTS OF THE INVENTION		111. STATEMENTS OF THE INVENTION	
112. STATEMENTS OF THE INVENTION		113. STATEMENTS OF THE INVENTION	
114. STATEMENTS OF THE INVENTION		115. STATEMENTS OF THE INVENTION	
116. STATEMENTS OF THE INVENTION		117. STATEMENTS OF THE INVENTION	
118. STATEMENTS OF THE INVENTION		119. STATEMENTS OF THE INVENTION	
120. STATEMENTS OF THE INVENTION		121. STATEMENTS OF THE INVENTION	
122. STATEMENTS OF THE INVENTION		123. STATEMENTS OF THE INVENTION	
124. STATEMENTS OF THE INVENTION		125. STATEMENTS OF THE INVENTION	
126. STATEMENTS OF THE INVENTION		127. STATEMENTS OF THE INVENTION	
128. STATEMENTS OF THE INVENTION		129. STATEMENTS OF THE INVENTION	
130. STATEMENTS OF THE INVENTION		131. STATEMENTS OF THE INVENTION	
132. STATEMENTS OF THE INVENTION		133. STATEMENTS OF THE INVENTION	
134. STATEMENTS OF THE INVENTION		135. STATEMENTS OF THE INVENTION	
136. STATEMENTS OF THE INVENTION		137. STATEMENTS OF THE INVENTION	
138. STATEMENTS OF THE INVENTION		139. STATEMENTS OF THE INVENTION	
140. STATEMENTS OF THE INVENTION		141. STATEMENTS OF THE INVENTION	
142. STATEMENTS OF THE INVENTION		143. STATEMENTS OF THE INVENTION	
144. STATEMENTS OF THE INVENTION		145. STATEMENTS OF THE INVENTION	
146. STATEMENTS OF THE INVENTION		147. STATEMENTS OF THE INVENTION	
148. STATEMENTS OF THE INVENTION		149. STATEMENTS OF THE INVENTION	
150. STATEMENTS OF THE INVENTION		151. STATEMENTS OF THE INVENTION	
152. STATEMENTS OF THE INVENTION		153. STATEMENTS OF THE INVENTION	
154. STATEMENTS OF THE INVENTION		155. STATEMENTS OF THE INVENTION	
156. STATEMENTS OF THE INVENTION		157. STATEMENTS OF THE INVENTION	
158. STATEMENTS OF THE INVENTION		159. STATEMENTS OF THE INVENTION	
160. STATEMENTS OF THE INVENTION		161. STATEMENTS OF THE INVENTION	
162. STATEMENTS OF THE INVENTION		163. STATEMENTS OF THE INVENTION	
164. STATEMENTS OF THE INVENTION		165. STATEMENTS OF THE INVENTION	
166. STATEMENTS OF THE INVENTION		167. STATEMENTS OF THE INVENTION	
168. STATEMENTS OF THE INVENTION		169. STATEMENTS OF THE INVENTION	
170. STATEMENTS OF THE INVENTION		171. STATEMENTS OF THE INVENTION	
172. STATEMENTS OF THE INVENTION		173. STATEMENTS OF THE INVENTION	
174. STATEMENTS OF THE INVENTION		175. STATEMENTS OF THE INVENTION	
176. STATEMENTS OF THE INVENTION		177. STATEMENTS OF THE INVENTION	
178. STATEMENTS OF THE INVENTION		179. STATEMENTS OF THE INVENTION	
180. STATEMENTS OF THE INVENTION		181. STATEMENTS OF THE INVENTION	
182. STATEMENTS OF THE INVENTION		183. STATEMENTS OF THE INVENTION	
184. STATEMENTS OF THE INVENTION		185. STATEMENTS OF THE INVENTION	
186. STATEMENTS OF THE INVENTION		187. STATEMENTS OF THE INVENTION	
188. STATEMENTS OF THE INVENTION		189. STATEMENTS OF THE INVENTION	
190. STATEMENTS OF THE INVENTION		191. STATEMENTS OF THE INVENTION	
192. STATEMENTS OF THE INVENTION		193. STATEMENTS OF THE INVENTION	
194. STATEMENTS OF THE INVENTION		195. STATEMENTS OF THE INVENTION	
196. STATEMENTS OF THE INVENTION		197. STATEMENTS OF THE INVENTION	
198. STATEMENTS OF THE INVENTION		199. STATEMENTS OF THE INVENTION	
200. STATEMENTS OF THE INVENTION		201. STATEMENTS OF THE INVENTION	
202. STATEMENTS OF THE INVENTION		203. STATEMENTS OF THE INVENTION	
204. STATEMENTS OF THE INVENTION		205. STATEMENTS OF THE INVENTION	
206. STATEMENTS OF THE INVENTION		207. STATEMENTS OF THE INVENTION	
208. STATEMENTS OF THE INVENTION		209. STATEMENTS OF THE INVENTION	
210. STATEMENTS OF THE INVENTION		211. STATEMENTS OF THE INVENTION	
212. STATEMENTS OF THE INVENTION		213. STATEMENTS OF THE INVENTION	
214. STATEMENTS OF THE INVENTION		215. STATEMENTS OF THE INVENTION	
216. STATEMENTS OF THE INVENTION		217. STATEMENTS OF THE INVENTION	
218. STATEMENTS OF THE INVENTION		219. STATEMENTS OF THE INVENTION	
220. STATEMENTS OF THE INVENTION		221. STATEMENTS OF THE INVENTION	
222. STATEMENTS OF THE INVENTION		223. STATEMENTS OF THE INVENTION	
224. STATEMENTS OF THE INVENTION		225. STATEMENTS OF THE INVENTION	
226. STATEMENTS OF THE INVENTION		227. STATEMENTS OF THE INVENTION	
228. STATEMENTS OF THE INVENTION		229. STATEMENTS OF THE INVENTION	
230. STATEMENTS OF THE INVENTION		231. STATEMENTS OF THE INVENTION	
232. STATEMENTS OF THE INVENTION		233. STATEMENTS OF THE INVENTION	
234. STATEMENTS OF THE INVENTION		235. STATEMENTS OF THE INVENTION	
236. STATEMENTS OF THE INVENTION		237. STATEMENTS OF THE INVENTION	
238. STATEMENTS OF THE INVENTION		239. STATEMENTS OF THE INVENTION	
240. STATEMENTS OF THE INVENTION		241. STATEMENTS OF THE INVENTION	
242. STATEMENTS OF THE INVENTION		243. STATEMENTS OF THE INVENTION	
244. STATEMENTS OF THE INVENTION		245. STATEMENTS OF THE INVENTION	
246. STATEMENTS OF THE INVENTION		247. STATEMENTS OF THE INVENTION	
248. STATEMENTS OF THE INVENTION		249. STATEMENTS OF THE INVENTION	
250. STATEMENTS OF THE INVENTION		251. STATEMENTS OF THE INVENTION	
252. STATEMENTS OF THE INVENTION		253. STATEMENTS OF THE INVENTION	
254. STATEMENTS OF THE INVENTION		255. STATEMENTS OF THE INVENTION	
256. STATEMENTS OF THE INVENTION		257. STATEMENTS OF THE INVENTION	
258. STATEMENTS OF THE INVENTION		259. STATEMENTS OF THE INVENTION	
260. STATEMENTS OF THE INVENTION		261. STATEMENTS OF THE INVENTION	
262. STATEMENTS OF THE INVENTION		263. STATEMENTS OF THE INVENTION	
264. STATEMENTS OF THE INVENTION		265. STATEMENTS OF THE INVENTION	
266. STATEMENTS OF THE INVENTION		267. STATEMENTS OF THE INVENTION	
268. STATEMENTS OF THE INVENTION		269. STATEMENTS OF THE INVENTION	
270. STATEMENTS OF THE INVENTION		271. STATEMENTS OF THE INVENTION	
272. STATEMENTS OF THE INVENTION		273. STATEMENTS OF THE INVENTION	
274. STATEMENTS OF THE INVENTION		275. STATEMENTS OF THE INVENTION	
276. STATEMENTS OF THE INVENTION		277. STATEMENTS OF THE INVENTION	
278. STATEMENTS OF THE INVENTION		279. STATEMENTS OF THE INVENTION	
280. STATEMENTS OF THE INVENTION		281. STATEMENTS OF THE INVENTION	
282. STATEMENTS OF THE INVENTION		283. STATEMENTS OF THE INVENTION	
284. STATEMENTS OF THE INVENTION		285. STATEMENTS OF THE INVENTION	
286. STATEMENTS OF THE INVENTION		287. STATEMENTS OF THE INVENTION	
288. STATEMENTS OF THE INVENTION		289. STATEMENTS OF THE INVENTION	
290. STATEMENTS OF THE INVENTION		291. STATEMENTS OF THE INVENTION	
292. STATEMENTS OF THE INVENTION		293. STATEMENTS OF THE INVENTION	
294. STATEMENTS OF THE INVENTION		295. STATEMENTS OF THE INVENTION	
296. STATEMENTS OF THE INVENTION		297. STATEMENTS OF THE INVENTION	
298. STATEMENTS OF THE INVENTION		299. STATEMENTS OF THE INVENTION	
300. STATEMENTS OF THE INVENTION		301. STATEMENTS OF THE INVENTION	
302. STATEMENTS OF THE INVENTION		303. STATEMENTS OF THE INVENTION	
304. STATEMENTS OF THE INVENTION		305. STATEMENTS OF THE INVENTION	
306. STATEMENTS OF THE INVENTION		307. STATEMENTS OF THE INVENTION	
308. STATEMENTS OF THE INVENTION		309. STATEMENTS OF THE INVENTION	
310. STATEMENTS OF THE INVENTION		311. STATEMENTS OF THE INVENTION	
312. STATEMENTS OF THE INVENTION		313. STATEMENTS OF THE INVENTION	
314. STATEMENTS OF THE INVENTION		315. STATEMENTS OF THE INVENTION	
316. STATEMENTS OF THE INVENTION		317. STATEMENTS OF THE INVENTION	
318. STATEMENTS OF THE INVENTION		319. STATEMENTS OF THE INVENTION	
320. STATEMENTS OF THE INVENTION		321. STATEMENTS OF THE INVENTION	
322. STATEMENTS OF THE INVENTION		323. STATEMENTS OF THE INVENTION	
324. STATEMENTS OF THE INVENTION		325. STATEMENTS OF THE INVENTION	
326. STATEMENTS OF THE INVENTION		327. STATEMENTS OF THE INVENTION	
328. STATEMENTS OF THE INVENTION		329. STATEMENTS OF THE INVENTION	
330. STATEMENTS OF THE INVENTION		331. STATEMENTS OF THE INVENTION	
332. STATEMENTS OF THE INVENTION		333. STATEMENTS OF THE INVENTION	
334. STATEMENTS OF THE INVENTION		335. STATEMENTS OF THE INVENTION	
336. STATEMENTS OF THE INVENTION		337. STATEMENTS OF THE INVENTION	
338. STATEMENTS OF THE INVENTION		339. STATEMENTS OF THE INVENTION	
340. STATEMENTS OF THE INVENTION		341. STATEMENTS OF THE INVENTION	
342. STATEMENTS OF THE INVENTION		343. STATEMENTS OF THE INVENTION	
344. STATEMENTS OF THE INVENTION		345. STATEMENTS OF THE INVENTION	
346. STATEMENTS OF THE INVENTION		347. STATEMENTS OF THE INVENTION	
348. STATEMENTS OF THE INVENTION		349. STATEMENTS OF THE INVENTION	
350. STATEMENTS OF THE INVENTION		351. STATEMENTS OF THE INVENTION	
352. STATEMENTS OF THE INVENTION		353. STATEMENTS OF THE INVENTION	
354. STATEMENTS OF THE INVENTION		355. STATEMENTS OF THE INVENTION	
356. STATEMENTS OF THE INVENTION		357. STATEMENTS OF THE INVENTION	
358. STATEMENTS OF THE INVENTION		359. STATEMENTS OF THE INVENTION	
360. STATEMENTS OF THE INVENTION		361. STATEMENTS OF THE INVENTION	
362. STATEMENTS OF THE INVENTION		363. STATEMENTS OF THE INVENTION	
364. STATEMENTS OF THE INVENTION		365. STATEMENTS OF THE INVENTION	
366. STATEMENTS OF THE INVENTION		367. STATEMENTS OF THE INVENTION	
368. STATEMENTS OF THE INVENTION		369. STATEMENTS OF THE INVENTION	
370. STATEMENTS OF THE INVENTION		371. STATEMENTS OF THE INVENTION	
372. STATEMENTS OF THE INVENTION		373. STATEMENTS OF THE INVENTION	
374. STATEMENTS OF THE INVENTION		375. STATEMENTS OF THE INVENTION	
376. STATEMENTS OF THE INVENTION		377. STATEMENTS OF THE INVENTION	
378. STATEMENTS OF THE INVENTION		379. STATEMENTS OF THE INVENTION	
380. STATEMENTS OF THE INVENTION		381. STATEMENTS OF THE INVENTION	
382. STATEMENTS OF THE INVENTION		383. STATEMENTS OF THE INVENTION	
384. STATEMENTS OF THE INVENTION		385. STATEMENTS OF THE INVENTION	
386. STATEMENTS OF THE INVENTION		387. STATEMENTS OF THE INVENTION	
388. STATEMENTS OF THE INVENTION		389. STATEMENTS OF THE INVENTION	
390. STATEMENTS OF THE INVENTION		391. STATEMENTS OF THE INVENTION	
392. STATEMENTS OF THE INVENTION		393. STATEMENTS OF THE INVENTION	
394. STATEMENTS OF THE INVENTION		395. STATEMENTS OF THE INVENTION	
396. STATEMENTS OF THE INVENTION		397. STATEMENTS OF THE INVENTION	
398. STATEMENTS OF THE INVENTION		399. STATEMENTS OF THE INVENTION	
400. STATEMENTS OF THE INVENTION		401. STATEMENTS OF THE INVENTION	
402. STATEMENTS OF THE INVENTION		403. STATEMENTS OF THE INVENTION	
404. STATEMENTS OF THE INVENTION		405. STATEMENTS OF THE INVENTION	
406. STATEMENTS OF THE INVENTION		407. STATEMENTS OF THE INVENTION	
408. STATEMENTS OF THE INVENTION		409. STATEMENTS OF THE INVENTION	
410. STATEMENTS OF THE INVENTION		411. STATEMENTS OF THE INVENTION	
4			

This annex lists the patent family members relating to the patent document cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file as The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 10/08/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9117777	28-11-91	None	
EP-A-0522569	11-01-93	None	

EP-A-0522569

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/93

フロントページの続き

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AU, BB, BG, BR, CA, CZ, FI, HU, JP, KP, KR, LK, MG, MN, M W, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SK, UA, US, VN

(72) 発明者 ロメオ, アウレリオ
イタリア国00161ローマ、ピアーレ・イッ
ボクラーテ93番

【公報種別】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】平成12年8月15日(2000.8.15)

【公表番号】特表平7-505643
 【公表日】平成7年6月22日(1995.6.22)
 【年通号数】
 【出願番号】特願平5-517994
 【国際特許分類第7版】

A61K 6/06
 6/097

A61L 27/00

【F I】

A61K 6/06 A
 6/097

A61L 27/00 J

手続補正書

平成12年 3月24日

(別紙)

特許庁長官殿

請求の範囲

1. 事件の表示

平成05年特許願第517994号

2. 補正をする者

名称 ファイブーン・リジスタ・ベル・アオニ

3. 代理人

住所 〒140-0001
 東京都中央区東区見1丁目3番7号 IMPビル
 青山特許事務所
 電話(03)8948-1281
 FAX (03)8948-0361

氏名 井堀士 (E214) 青山 森



4. 補正対象書類名

請求の範囲

5. 補正対象項目名

請求の範囲

6. 補正の箇所

取替の通り

1. ヒアルロン酸エステルとヒアルロン酸で構成される群から選択されるヒアルロン酸誘導体を生体物質と共に含有する顆粒骨置換剤のための結合溶媒。
 2. 該溶媒が25℃の温度、相対湿度約50%で約15Pa・sから約30Pa・sまでの範囲の粘度を持つ請求項1の結合溶媒。
 3. 該溶媒が25℃の温度、相対湿度約50%で約22Pa・sから約28Pa・sまでの範囲の粘度を持つ請求項1の結合溶媒。
 4. 該ヒアルロン酸エステルがヒアルロン酸の25%ベンジルエステル、ヒアルロン酸の50%ベンジルエステルおよびヒアルロン酸の50%ニズルエステルから構成される群から選択されるもの少なくとも1個である請求項1の結合溶媒。
 5. 請求項1の結合溶媒および天然または人工骨顆粒を含む顆粒骨置換剤のためのペースト。
 6. 該結合溶媒および骨顆粒が約1:3w/wの比率で存在する請求項5のペースト。
 7. 骨顆粒の直径が約50μmから約5mmまでの範囲内にある請求項5のペースト。
 8. 骨顆粒が多孔質であるかまたは非多孔質である請求項5のペースト。
 9. 骨顆粒がヒドロキシアパタイト、磷酸トリカルシウムおよび炭酸カルシウムから構成される群から選択される請求項5のペースト。
 10. 約16万ダルトンと約23万ダルトンとの間の分子量を持つヒアルロン酸の25%ベンジルエステルの溶媒および約420μmから約1000μmまでの直径を持つヒドロキシアパタイトの顆粒を含む請求項5のペースト。
 11. 約14万ダルトンと約21万ダルトンとの間の分子量を持つヒアルロン酸の50%ニズルエステル溶媒および約420μmから約1000μmまでの直径を持つヒドロキシアパタイトの顆粒を含む請求項5のペースト。
 12. 約14万ダルトンと約25万ダルトンとの間の分子量を持つヒアルロン酸の50%ベンジルエステルの溶媒および約530μmから約1000μmまでの

の直径を持つ多孔性炭酸カルシウムの顆粒を含む請求項5のペースト。

13. 請求項5のペーストの有効量と損傷したまたは欠陥のある骨とを接触させることからなるヒトまたは動物の歯科または外科において損傷したまたは欠陥のある骨の修復または成長の促進方法。

14. 顆粒置換剤のための結合溶液を製造するための、抗生物質と共に使用されるヒアルロン酸エステルとヒアルロン酸塩で構成される群から選択されるヒアルロン酸誘導体の使用。

15. ヒトまたは動物の歯科または外科において損傷したまたは欠陥のある骨の修復または成長を促進させるための請求項5のペーストの使用。